

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE *MIKANIA GLOMERATA* E DA PRÓPOLIS UTILIZADOS NO LABORATÓRIO DE FITOTERÁPICOS DA FAI

EVALUATION OF THE ANTIMICROBIANA ACTIVITY OF THE MIKANIA GLOMERATA AND THE PROPOLIS USED IN THE LABORATORY OF FITOTERÁPICOS OF THE FAI.

Daiana Ap. Corvelli da Penha
Aluna do Curso de Farmácia – FAI

Érica Tiemi Hashimoto
Aluna do Curso de Farmácia – FAI

Wayna Rosana Bonfim Silva
Aluna do Curso de Farmácia – FAI

João Marcelo A. B. B. Nabas
Mestre em Ciências Farmacêuticas - UNESP

Regina Satsuki Motizuki
Farmacêutica- USP

RESUMO

O uso irracional e abusivo de antimicrobiano leva ao desenvolvimento de cepas cada vez mais resistentes aos medicamentos já conhecidos. A busca por novos medicamentos que sejam eficazes contra essas cepas levou a um aumento das pesquisas de fitoterápicos. Esses estudos com plantas medicinais são responsáveis por inúmeras e importantes descobertas na terapêutica, graças a seus metabólitos secundários uma mesma planta pode apresentar ações terapêuticas distintas. O guaco é uma planta muito utilizada como broncodilatadora e expectorante, nos últimos anos sua ação antimicrobiana vem sendo muito estudada. A própolis já era utilizada desde o Egito antigo, sua característica panacéia levou a um interesse global. O objetivo deste trabalho é avaliar a atividade antimicrobiana da própolis e do guaco utilizados na manipulação de medicamentos pelo laboratório de fitoterápicos da FAI, frente a cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853 IAL1026), *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 IAL1606), *Salmonella sp* (ATCC 19196), *Candida albicans* (ATCC 64550), as quais são comumente causadoras de infecções em humanos.

Palavras-chave: Guaco. Própolis. Flavonóides. Taninos.

ABSTRAT

The irrational and abusive use of antimicrobial takes more and more to the development of stumps resistant to the medicines already known. The search for new medicines that are effective against those stumps, took the an increase of the fitoterapics researches. Those studies with medicinal plants are responsible for countless and important discoveries in the therapeutics, thanks to your secondary metabolites a same plant can present different therapeutic actions. The guaco is a plant very used as bronchodilatator and expectorant, in your last years action antimicrobial is being very studied. The propolis was already used from old Egypt, your characteristic panacea took to a global interest. The objective of this work is to evaluate the activity antimicrobial of the propolis and of the guaco used in the manipulation of medicines by the laboratory of herbal of FAI, front to stumps of *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC

27853 IAL1026), *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 IAL1606), *Salmonella sp* (ATCC 19196), *Candida albicans* (ATCC 64550), which are commonly causers of infections in humans.

Key-works: Guaco. Propolis. Flavonoids. Tanines.

INTRODUÇÃO

A OMS (Organização Mundial de Saúde) define planta medicinal como sendo todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semi-sintéticos (JUNIOR; PINTO, 2005).

O uso de fitoterápicos com finalidade profilática, curativa, paliativa ou com fins de diagnóstico passou a ser oficialmente reconhecido pela OMS em 1978, quando recomendou a difusão mundial dos conhecimentos necessários para o seu uso. Considerando-se as plantas medicinais importantes instrumentos da Assistência Farmacêutica, vários comunicados e resoluções da OMS expressam a posição desse órgão a respeito da necessidade de valorizar o uso desses medicamentos, no âmbito sanitário. É sabido que 80% da população mundial dependem das práticas tradicionais no que se refere à atenção primária à saúde, e 85% dessa parcela utiliza plantas ou preparações à base de vegetais. Ressalte-se aí que 67% das espécies vegetais medicinais do mundo são originadas dos países em desenvolvimento (ALONSO, 1998).

Nos últimos anos tem surgido um maior interesse pelos fitoterápicos devido á aceitação da visão holística de tratamento que atribui o surgimento de muitas doenças complexas como diabete, doenças do coração, câncer e desordens psiquiátricas, a uma combinação de fatores genéticos, ambientais e comportamentais (RASKIN et al.,2002). Além disso, com o aumento de microrganismos resistentes às drogas antimicrobianas já conhecidas, vários extratos de plantas medicinais já foram testados, com a finalidade de procurar novas drogas com atividades antimicrobianas reconhecidas. Os vegetais ricos em taninos, flavonóides e polifenóis estão entre os extratos e óleos essenciais mais testados para esta atividade (REIS, 2006).

Os flavonóides apresentam vasto emprego terapêutico, Costa (1987), cita algumas de suas ações, como diurético, inibidor da oxidação da adrenalina, estimulante cardíaco, antimicrobiano, anti-helmintico.

Nas últimas décadas, vários grupos tem investigado as atividades farmacológicas e biológicas dos taninos. Testes *in vitro* realizados com extratos ricos em taninos ou com taninos puros tem identificado diversas atividades biológicas desta classe de substâncias. Dentre essas atividades podem-se citar ação bactericida e fungicida (SCALBERT, 1991), antiviral e antitumoral (OKUDA et al, 1993).

Duarte et al, 2005, constataram que o óleo essencial de *M. glomerata* apresentou grande atividade contra *Candida albicans*. Yatsuda et al (2005), verificaram que o extrato etanólico de ambas espécies, e principalmente suas frações mais apolares, mostraram-se ativos contra o crescimento e aderência de patógenos orais (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus cricetus*). Davino et al (1989), descreveram a atividade antifúngica e antibacteriana dos diterpenos, ácido caurenóico e ácido cinamoil grandiflorico, sendo ambas, substâncias de baixa polaridade, encontrados em *M. glomerata* e *M. laevigata*. Tais dados podem justificar suas atividades antimicrobianas.

Nos últimos anos, a literatura científica vem relatando as propriedades farmacológicas da própolis de interesse médico-farmacêutico, tais como atividades bacteriostática e bactericida, fungistática e fungicida, virustática e virucida, antioxidante, antitumoral, cicatrizante, reparadora tissular, anestesia, contra parasitas intestinais e sanguíneos, antimutagênica e contra doenças cardiovasculares e respiratórias (ADELMANN, 2005).

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* da própolis e do guaco, utilizados pelo laboratório de fitoterápicos da FAI, frente às cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853 IAL1026), *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 IAL1606), *Salmonella sp* (ATCC 19196), *Candida albicans* (ATCC 64550).

MATERIAIS E MÉTODOS

Material vegetal

O guaco utilizado é da espécie *Mikania glomerata*, cultivada e colhida no Campus II das Faculdades Adamantinenses Integradas. O material fresco depois de colhido foi submetido à lavagem e seleção das folhas adequadas. Após este procedimento, o material vegetal foi submetido à secagem em estufa de circulação de ar forçado, a 38°C, por 72 horas.

Foi preparada uma tintura hidroalcoólica a 70%. O extrato foi preparado pelo método de turbólise. Após esse procedimento o extrato foi filtrado primeiramente em gaze, e depois em papel de filtro. O extrato foi armazenado em frasco de vidro âmbar.

O solvente da tintura foi extraído em evaporador rotativo Quimis®, com temperatura de 40°C, para a obtenção de um extrato puro.

Uma amostra de própolis comercial, do laboratório Lafabra, foi utilizada para os testes de atividade antimicrobiana.

Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro

A fim de se avaliar a atividade antimicrobiana da tintura hidroalcoólica de guaco, do extrato puro de guaco e da própolis, foram realizados ensaios no Laboratório de Microbiologia da FAI, frente a microrganismos, Gram-negativos, Gram-positivos e fungo. Para tanto foram utilizados os seguintes microrganismos: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853 IAL1026), *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 IAL1606), *Salmonella sp* (ATCC 19196), *Candida albicans* (ATCC 64550), cepas gentilmente cedidas pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Campus de Araraquara. Os padrões foram obtidos a partir de culturas de microrganismos ensaiados, cultivados em Caldo Triptona Soja (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*) e Caldo Lactosado (*Escherichia coli*, *Salmonella sp*), incubados por 6 horas a 36°C.

A partir de uma suspensão de cada microrganismo, foram preparados os inóculos através da comparação de turbidez com o padrão de Mc Farland.

Para avaliar a atividade antimicrobiana foi utilizada a técnica de difusão em disco. Foram utilizados discos de papel de filtro de 6mm de diâmetro contendo: tintura hidroalcoólica de guaco, extrato puro de guaco, própolis e antibiótico Despacilina® (controle).

Análise espectrofotométrica

Teor de flavonóides

Para quantificar os flavonóides presentes, as amostras foram diluídas a 1/5 com etanol a 70%, 2mL de cada amostra

foram transferidos para um balão de 25mL, adicionado 1mL de cloreto de alumínio a 2,5% e o volume completado com álcool a 70%. Após 30 minutos foi realizada a leitura em espectrofotômetro em 425nm.

Teor de polifenóis totais

Em um tubo de ensaio foi colocado 0,1mL de amostra diluída, 3mL de água destilada, agitados e depois acrescentado 1mL de ferricianeto de potássio e 1mL de cloreto férrico, após 15 minutos foram adicionados 5mL de solução estabilizante. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 700nm.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Antibiograma

A tabela abaixo demonstra os resultados da formação de halo de inibição e sua medida em milímetros de diâmetro. Os resultados obtidos classificam os microrganismos em sensíveis, intermediários ou resistentes à tintura de guaco, ao extrato puro de guaco, à própolis e ao antibiótico Despacilina® (controle).

Tabela 1: Resultados obtidos através do antibiograma.

	Tintura de Guaco	Extrato puro de Guaco	Própolis	Antibiótico
<i>E. coli</i>	7,72	-	7,67	31,93
<i>S. aureus</i>	8,66	11,05	7,32	49,18
<i>Salmonella</i>	14,11	-	-	23,72
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	7,90	9,3	8,25	-

- = Não formou halo de inibição

Nenhum extrato apresentou atividade antimicrobiana contra a cepa de *P. aeruginosa*. A tintura hidroalcoólica do guaco apresentou um espectro de ação maior, em relação aos extratos puros de guaco e própolis. Frente à *Salmonella* mostrou-se mais eficaz, e ação intermediária para, *C. albicans*, *S. aureus* e *E. coli*. As cepas de *S. aureus* e *C. albicans* são sensíveis ao extrato puro de guaco. A própolis analisada demonstrou ação antimicrobiana intermediária frente à *E. coli*, *S. aureus* e *C. albicans*.

Análise espectrofotométrica

As tabelas 2 e 3 demonstram os resultados dos ensaios espectrofotométricos realizados com as amostras para a determinação de seus teores de flavonóides e polifenóis totais.

Tabela 2: Flavonóides Totais

Extratos	Concentração mg/L	Média
Tintura de Guaco	593.2	2.0029
Extrato puro de Guaco	742.3	2.5099
Própolis	251.0	0.8392

Tabela 3: Polifenóis Totais

Extratos	Concentração mg/L	Média
Tintura de Guaco	0,84	0.7974
Extrato puro de Guaco	1,92	1.7535
Própolis	0,29	0.3063

A presença de álcool na tintura pode ter interagido de forma sinérgica com alguns dos componentes do guaco, contribuindo para a inibição das cepas. O extrato puro mostrou uma maior concentração de flavonóides e polifenóis totais, devido ao extrato de guaco ter sido concentrado. Porém, após a extração do álcool da tintura observou-se diminuição do espectro de ação. A eficácia intermediária da própolis pode ser explicada pela baixa concentração de polifenóis totais e flavonóides, isso pode ter ocorrido pela qualidade do extrato utilizado, ou pela forma de extração desse extrato, ou ainda pela época do ano e região em que a própolis foi colhida.

CONCLUSÃO

Os resultados do presente estudo indicam que os produtos naturais comumente utilizados na medicina popular brasileira apresentaram atividade antimicrobiana. A tintura de *M. glomerata* apresentou forte atividade, com inibição de 4 de 5 cepas utilizadas no estudo. O extrato puro de *M. glomerata* foi apto a inibir as cepas de *S. aureus* e *C. albicans*. O extrato comercial da própolis apresentou inibição intermediária contra as cepas de *E.coli*, *S. aureus* e *C. albicans*. Os resultados apresentam uma expressiva contribuição para a caracterização da atividade antimicrobiana de produtos naturais largamente utilizados na medicina popular.

REFERÊNCIAS

- ADELMANN, J. **Própolis: variabilidade composicional, correlação com a flora e bioativação antimicrobiana/antioxidante.** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal do Paraná, 2005.
- ALONSO, R. J. **Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas.** Buenos Aires: ISIS, 1998.
- COSTA, A. F. **Farmacognosia.** Lisboa: Calouste Gulbenkian, 1987.
- DAVINO S. C.; GIESBRECHT A. M.; ROQUE N. F. Antimicrobial activity of kaurenoic acid derivatives substituted on carbon-15. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.22, n.9, p.1127-1129, 1989.
- DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A.; REHDER, V. L. G.; DELARMELENA, C. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**. 97, 305-311, 2005.
- JUNIOR, V. F. V.; PINTO, A.C. Plantas medicinais: cura segura? **Química Nova**, v.28, n.3, p.519-528, 2005.
- OKUDA, T.; YOSHIDA, T.; HATANO, T. Classification of oligomeric hydrolysable tannins and specificity of their occurrence in plants. **Phytochemistry**, v. 32, p 507-521, 1993.
- RASKIN, I. et al. **Plants and human health in the twenty-first century.** TRENDS in Biotechnology, p. 522-531, 2002.
- REIS, M. O. R. **Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do extrato hidroalcoólico das folhas de Persea**

gratissima Gaertn – Abacateiro – (Lauraceae). (Mestrado em Promoção de Saúde) Universidade de Franca, 2006.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v.30, p. 3875-3883, 1991.

YATSUDA, R. et al. Effects of Mikania genus plants on growth and cell adherence of mutans streptococci. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, p. 183-189, 2005.